

Werfen wir noch einen Rückblick auf die gewonnenen Resultate, so lassen sich dieselben, wie schon anfangs bemerkt wurde, in den Satz zusammenfassen, dass alle mit Tüpfeln versehenen Zellmembranen eine solche optische Reaction geben, als wenn sie in der Richtung, in die der grössere Durchmesser der Tüpfel fällt, gezogen wären.

Schliessen wir uns denjenigen an, die die doppelbrechenden Eigenschaften der Zellmembranen auf Spannungen zurückführen, so hat die constatirte Thatsache nichts Auffallendes; vielmehr scheint dieselbe auf den ersten Blick einen schönen Beweis für die Richtigkeit ihrer Ansicht zu liefern. Es scheint mir jedoch, dass die letzte Schlussfolgerung zu voreilig sein würde, denn es wäre ja doch ebenso gut möglich, dass die constatirte Beziehung in den zwischen den Micellen wirkenden Molecularkräften ihren Grund hat.

Berlin, botanisches Institut der
landwirthschaftl. Hochschule.

21. L. Kny: Die Beziehungen des Lichtes zur Zelltheilung bei *Saccharomyces cerevisiae*.

Eingegangen am 18. März 1884.

Zellwachsthum und Zelltheilung sind Vorgänge, welche, wie bekannt, bei der Gewebebildung der höheren Pflanzen meist Hand in Hand gehen, aber nicht nothwendig mit einander verbunden sind. Zahlreiche Beispiele gibt es dafür, dass ein sehr ausgiebiges Wachsthum ohne Fächerung durch Scheidewände erfolgen kann (Thallus vieler Phycomyceten und der meisten Siphoneen, Milchzellen der *Euphorbien*). Dass auch das Gegentheil, nämlich Theilung des Plasmakörpers ohne nachweisbare Vergrösserung der Mutterzelle vorkommt, zeigt die Entwicklung der Stammglieder vieler Sphacelariaceen und die Schwärm-sporenbildung gewisser Algen und Pilze.

Bei der Unabhängigkeit, in welcher die Processe des Zellwachsthums und der Zelltheilung nebeneinander verlaufen, steht von vornherein zu erwarten, dass äussere Agentien, wie Licht, Wärme, Schwerkraft etc. nicht den gleichen Einfluss auf beide ausüben werden. Diese Voraussetzung findet in der Thatsache eine Unter-

stützung, dass bei dem abnormen Längenwachsthum vergeilender Sprosse und bei den mit heliotropischen und geotropischen Krümmungen verbundenen Ungleichheiten der Längsstreckung das Wachsthum der Zellen und ihre Querschichtung der Regel nach nicht gleichen Schritt halten.

Genauere experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen einzelner Kräfte zum Wachsthum und zur Theilung der Zellen liegen zur Zeit erst in sehr geringer Zahl vor.

Was im Besonderen das Licht betrifft, so hatte Brefeld¹⁾ gezeigt, dass der einzellige Fruchträger von *Pilobolus microsporus* im Dunkeln sich auffallend verlängert und dass seine normale Ausbildung und die Abtrennung des Sporangiums an die stärker brechbaren Strahlen des Spectrums gebunden ist. Bald darauf wurde von Sydney H. Vines²⁾ die retardirende Wirkung des Lichtes beim Wachsthum des Fruchträgers eines nahe verwandten Pilzes, des *Mucor Phycomyces*, bestätigt und durch Messungen genauer bestimmt. Auch er gibt an, dass die durch Kupferoxydammoniak gegangenen Strahlen wirksam, die durch eine Lösung von doppelt-chromsaurem Kali gegangenen dagegen unwirksam seien.

Für Beurtheilung der Abhängigkeit, welche die Zelltheilung vom Lichte zeigt, war zunächst die Entdeckung von A. Braun³⁾ von Wichtigkeit, dass bei grünen Algen, wie *Spirogyra*, *Hydrodictyon* etc., sowohl vegetative als reproductive Zellbildungsprocesse im Verlaufe der normalen Entwicklung zur Nachtzeit stattfinden. Später hob Sachs wiederholt hervor, dass bei höheren Pflanzen lebhaftere, mit Neuanlegung von Organen und deren Wachsthum verbundene Zelltheilungen in tiefster Dunkelheit stattfinden, dass in anderen Fällen ähnliche Vorgänge sich aber unter dem Einflusse des Lichtes, selbst intensiveren Lichtes vollziehen. Er zieht hieraus den Schluss: „Vorausgesetzt, dass assimilirte Reservestoffe vorhanden sind, können Zelltheilungen also im Lichte, wie in Finsterniss stattfinden; ob es vielleicht specifisch eigenthümliche Fälle giebt, wo das Licht die Zelltheilung hindert oder befördert, ist nicht sicher bekannt.“⁴⁾

1) Ueber die Bedeutung des Lichtes für die Entwicklung der Pilze (Sitz.-Ber. der Gesellsch. naturf. Freunde zu Berlin, 1877, p. 129; auch abgedruckt in der Bot. Zeitung, 1877, p. 402).

2) The Influence of Light upon the Growth of unicellular Organs (Arbeiten des botan. Institutes in Würzburg. II., 1., 1878, p. 133 ff.).

3) Verjüngung (1851), p. 237 ff.

4) Sachs, Lehrbuch der Botanik, IV. Aufl. (1874) p. 724. Vergl. auch frühere Arbeiten desselben Forschers, insbesondere „Ueber den Einfluss des Tageslichtes auf Neubildung und Entfaltung verschiedener Pflanzenorgane“ (Bot. Zeitung, 1863, Beilage) und Experimental-Physiologie d. Pflanzen (1865), p. 31.

Auf experimentellem Wege wurde die Frage zuerst von Famintzin¹⁾ behandelt. Er stellte seine Versuche mit den Fäden einer *Spirogyra* an. Da dieselben reichlich Chlorophyll enthalten, sich also die Stoffe für den Aufbau neuer Membranen unter Mitwirkung des Lichtes selbst bereiten, so stand zu erwarten, dass das Licht die Zelltheilungen hier indirect beeinflussen und zwar begünstigen werde. Dass dem wirklich so ist, ergibt sich klar aus den Zahlenangaben auf S. 3—4 der ersten Abhandlung. Weniger unzweideutig sind die Resultate jener Versuche, welche sich auf die directe Abhängigkeit der Zelltheilung vom Lichte beziehen. Ich finde deren in der ersten Abhandlung im Ganzen nur zwei. Der erste und wichtigste dieser Versuche lautet folgendermaassen: ²⁾ „Am 27. Februar um 7 Uhr Abends wurde ein am Tageslichte cultivirter Faden, an dem ich die Periodicität der Zelltheilung schon längere Zeit beobachtet habe, in 2 Theile zerschnitten. Das eine aus 65 Zellen bestehende Stück wurde sogleich unter das concentrirte Lämpenlicht gebracht und bis zum anderen Morgen beleuchtet; um 7 Uhr Morgens enthielt es 105 Zellen. Das andere, aus 64 Zellen bestehende Stück desselben Fadens wurde im Dunkeln während dieser Zeit aufbewahrt. Um 7 Uhr Morgens wurden an ihm 101 Zellen wahrgenommen.“³⁾

Hier hatte, wie Famintzin hinzufügt „das Licht die Zelltheilungen nicht im Mindesten aufgehalten“; es hatte dieselben aber auch nicht in erheblicher Weise begünstigt.

Der zweite Versuch (No. 3 auf S. 25) ist mit Fäden angestellt, welche vorher mehrere Tage unter abnormen Verhältnissen cultivirt waren. Aus ihm würde sich eine directe Begünstigung der Zelltheilungen durch das Licht ergeben. Dasselbe würde aus dem, über mehrere Tage sich ausdehnenden Versuche der zweiten Abhandlung (S. 137—143) hervorgehen. Die Stärke, mit welcher die Zellen durch 48 stündiges Verweilen unter dem vollen Lampenlichte überfüllt waren, wurde in sehr verschiedener Weise verbraucht, je nachdem die Fäden weiterhin im Lichte oder im Dunkeln verweilten. Während im ersteren Falle eine grössere Zahl von Querwänden gebildet wurde, die Zellen aber kurz blieben, wurde die Stärke im Dunkeln vorzugsweise für das Längenwachsthum der Seitenwände verbraucht, und es entstanden dabei nun weniger Querwände.⁴⁾

1) Die Wirkung des Lichtes auf die Zelltheilung der *Spirogyra* (Mélanges physiques et chimiques tirés du bulletin de l'Acad. impér. des sc. de St. Pétersbourg, 30. April
12. Mai 1868) und die Wirkung des Lichtes auf die Zelltheilung (Mélanges biologiques etc., 13./25. März 1873.

2) l. c., p. 24.

3) Bei diesen und anderen Versuchen vermisse ich Angaben darüber, ob die Temperatur bei den im Lichte und im Dunkeln befindlichen Fäden die gleiche war.

4) Siehe die Zusammenstellung des Resultates auf S. 144 der zweiten Abhandlung

So werthvoll die Famintzin'schen Versuche als die ersten ihrer Art sind, und so sehr sie es wahrscheinlich machen, dass bei *Spirogyra* ausser der indirecten Einwirkung vom Lichte noch ein directer specifischer Einfluss auf die Zelltheilung geübt wird,¹⁾ so kann durch sie die Frage, wie in diesem Einzelfalle das Licht den Zelltheilungen gegenüber sich verhält, nicht als entschieden gelten. Selbst, wenn man individuelle Schwankungen in Rechnung zieht, zeigt das Resultat des ersten der drei für unsere Frage verwertbaren Versuche mit dem der anderen beiden zu wenig Uebereinstimmung. Dann ist aber *Spirogyra* wegen der durch den periodischen Wechsel von Tag und Nacht inducirten und von Famintzin durch sorgfältige Zählungen bestätigten Periodicität in der Zelltheilung überhaupt kein günstiges Object, um die Frage nach den Beziehungen des Lichtes zur Zelltheilung in erster Linie durch den Versuch in Angriff zu nehmen; denn selbst, wenn wir feststellen, dass von zwei Hälften eines am Tageslichte mit Stärke erfüllten Fadens die eine zur Nachtzeit im Dunkeln ihre Zellenzahl in nahezu gleichem Maasse vermehrt, wie die andere bei künstlicher Beleuchtung, so bleibt immer noch der Zweifel bestehen, ob nicht die dem Faden eigene, in beiden Hälften gleichmässig wirksame Periodicität der Zelltheilung einen etwaigen directen Einfluss des Lichtes so stark überwiegt, dass letzterer für die Beobachtung fast ganz verdeckt wird.

Diese Erwägung bestimmte mich, nach einem für die Entscheidung der Frage geeigneteren Objecte Umschau zu halten. Ich glaube, dasselbe in der Bierhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) gefunden zu haben. Als saprophytischer Pilz ist dieselbe in der Herstellung der Baustoffe nicht an die Mitwirkung des Lichtes gebunden; es fehlte somit die Veranlassung, dass sich hier ebenso, wie bei den *Spirogyra*-Fäden, eine Beschränkung der Zelltheilungen auf die Nachtstunden herausbildete. In der That finden dieselben, wie man sich leicht überzeugen kann, bei genügender Zufuhr von Nährstoffen jederzeit lebhaft statt.

Vor anderen saprophytischen Pilzen empfehlen sich die Hefe-Arten für unsere Untersuchung durch den grossen practischen Vorzug, dass ihre Zellen bei ihrer kugeligen oder ovalen Gestalt sich auch äusserlich scharf gegen einander abgrenzen. Ihre Zählung wird hierdurch in hohem Maasse erleichtert. Zwar ist es unvermeidlich, auch diejenigen kleinsten Protuberanzen, welche noch nicht als Zellen individualisirt sind, als solche zu zählen, da man sich nicht in jedem einzelnen Falle Sicherheit darüber verschaffen kann, ob die Scheidewand schon fertig gebildet ist; doch ist der sich hieraus ergebende Fehler dann

1) Vergl. mit unserer Beurtheilung der Famintzin'schen Untersuchung die Kritiken von Sachs, Lehrb. d. Bot., III. Aufl., p. 669 (IV. Aufl., p. 733) und H. de Vries in Just's Botan. Jahresber., 1873, p. 263.

bedeutungslos, wenn, wie in unseren Versuchen, die beiden mit einander verglichenen Summen nahezu gleich sind.

Bei den grossen individuellen Verschiedenheiten, welche die einzelnen Hefezellen in ihrer Theilungsfähigkeit auch unter gleichen äusseren Bedingungen zeigen, musste die Untersuchung der Frage, ob die Theilungen durch das Licht begünstigt oder gehemmt werden, einen statistischen Charakter annehmen, d. h. es musste ein Mittelwerth aus möglichst vielen einzelnen Zählungen gewonnen werden.

Um die Zählungen mit möglichster Genauigkeit auszuführen, bot sich zunächst das von Malassez angegebene Verfahren zum Zählen der Blutkörperchen dar, welches auf Anregung von Panum von M. Rasmus Pedersen¹⁾ zuerst bei Hefezellen angewendet worden ist.

Meine Untersuchung wurde an einer sehr reinen Presshefe angestellt, welche das hiesige Laboratorium des Vereines der Spiritus-Fabrikanten täglich in frischem Zustande von Heinr. Helbing in Wandsbeck erhält.²⁾ Die angewandte Nährlösung³⁾ enthält in 1 l:

100 g Rohrzucker

2,5 g Asparagin

20 ccm Mineralsalz-Lösung.

Letztere enthielt in 1 l:

50 g saures phosphorsaures Kali ($K H_2 P O_4$)

17 g krystallisirte schwefelsaure Magnesia ($Mg S O_4$).

Ein Zusatz von Kalk war nicht erforderlich, da solcher in dem zur Herstellung der Lösung verwendeten Leitungswasser in genügender Menge enthalten war.

Diese Nährlösung zeigte sich für die Vermehrung der Hefezellen vorzüglich geeignet. Schon nach wenigen Stunden sah man an den eingebrachten Zellen der Presshefe die bekannten Sprossungen eintreten.

Nachdem die Hefe in der beschriebenen Nährlösung einige Male umgezüchtet worden war, wurde ein entsprechendes Quantum derselben in frischer Nährlösung so vertheilt, dass die Zählung in der Kammer leicht ausgeführt werden konnte. Die Kammer⁴⁾ bestand aus einem Objectträger von Spiegelglas, welchem eine kleinere, in der Mitte von kreisförmiger Oeffnung durchbohrte Spiegelglasplatte von genau $\frac{1}{2}$ mm Dicke aufgekittet war. Am Grunde des hierdurch gebildeten Troges waren zwei rechtwinkelig sich kreuzende Systeme unter sich paralleler Linien in 0,05 mm Abstand mit dem Diamanten eingeritzt. Wurde nun die

1) Recherches sur quelques facteurs qui ont de l'influence sur la propagation de la levûre basse du *Saccharomyces cerevisiae* (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1. (1878), p. 22).

2) Für freundliche Ueberlassung des Untersuchungsmaterials und Angabe einer passenden Nährlösung bin ich Herrn Professor Delbrück zu Dank verpflichtet.
3) Nach Hayduck in der Zeitschr. f. Spiritus-Industrie, 1881, p. 174.

4) Dieselbe war von R. Krügelstein in Berlin, Leipzigerstr. 130 bezogen.

Hefe durch starkes Schütteln oder Umrühren in der Nährlösung möglichst gleichmässig vertheilt, ein Tropfen derselben rasch in den Trog gebracht und ein genau ebengeschliffenes Deckglas sofort darüber geschoben, so konnte durch Einstellung der Theilungen am Grunde des Troges leicht festgestellt werden, wie viele Hefezellen sich in der Maasseinheit der Nährlösung befanden.

Um vergleichbare Resultate zu erhalten, ist natürlich eine gleichmässige Vertheilung der Hefecolonieen in der Nährlösung erste Bedingung. Doch ist dieselbe, trotz sorgfältigsten Schüttelns oder Umrührens, nur annähernd zu erreichen, da in dem Tropfen welchen man mit dem Glasstäbchen oder mit der Pipette in den Trog bringt, sich die Zellen resp. deren Colonieen, selbst bei raschester Manipulation, sofort in etwas ungleicher Art vertheilen. In der Mitte des zwischen den Wänden des Troges und dem Deckglase eingeschlossenen Tropfens von Nährlösung fand ich die Hefezellen stets etwas dichter gesät, als gegen den Rand hin. Es ist deshalb, um vergleichbare Mittelwerthe zu erhalten, unbedingt nothwendig, dass man die Zählungen stets in denselben Quadraten des Liniennetzes ausführt; andernfalls würde man leicht versucht werden, in der Auswahl parteiisch zu verfahren, und es würde die Untersuchung dann jeden Werth verlieren.

Andere Vorsichtsmassregeln, z B. dass man beim Aufschieben des Deckglases dafür sorgen müsse, dass der Rand desselben fest an der Unterlage angesaugt sei, dass keine Luftblasen eingeschlossen werden, dass etwaige überschüssige Flüssigkeit rasch durch Fliesspapier entfernt werde, und dass man vor Beginn der Zählung einige Minuten warten müsse, bis sämtliche Hefezellen auf den Boden des Troges herabgesunken seien, bedürfen kaum der Erwähnung. Alles Weitere bitte ich bei M. Rasmus Pedersen l. c., p. 24—26 nachzulesen.

Nachdem der mittlere Gehalt der Nährlösung an Hefezellen durch eine Reihe von Zählungen, von denen sich jede auf dieselben 16 Quadrate der angewendeten Kammer bezogen¹⁾, festgestellt war, wurde die Flüssigkeit, unter fortdauerndem starken Umrühren und wiederholtem abwechselnden Abgiessen, in zwei flache Krystallisationsschalen von gleicher Querschnittsfläche und Höhe zu gleichen Hälften vertheilt, von denen die eine für mehrstündiges Verweilen im Lichte die andere im Dunkeln bestimmt war. Um alle übrigen Bedingungen, besonders die Temperatur, möglichst gleichmässig herstellen zu können, wurde einer künstlichen Lichtquelle der Vorzug gegeben. Als solche dienten fünf nebeneinander befindliche flache Glasflammen, welche mittels

1) Dieselben füllten den grösseren Theil des Gesichtsfeldes bei Seibert's Obj.V. aus, gestatteten also eine sichere Zählung ohne Verschiebung der Kammer. Sämmtliche Zählungen wurden von meinem Assistenten, Herrn Dr. A. Zimmermann controlirt, der mir auch sonst bei Ausführung der Versuche mehrfach zur Seite gestanden hat.

eines Gasdruckregulators während der Versuchsdauer in gleicher Stärke erhalten wurden. Vor denselben befand sich ein mit destillirtem Wasser gefülltes, aus parallelen Spiegelglasplatten aufgebautes Gefäß von 4 cm lichter Weite. Die 4 cm dicke Wasserschicht, welche das Licht zu passiren hatte, bevor es zu den Versuchsobjecten gelangte, sollte die von den Flammen ausgehenden Wärmestrahlen zurückhalten¹⁾.

Die zwei flachen Schalen, in welchen die Nährlösung mit der Bierhefe vertheilt war, befanden sich unter je einer tubulirten Glasglocke. Die eine derselben war mit geschwärztem Papier lückenlos überklebt und zum Theil noch mit einem schwarzen Tuche überdeckt; die andere war vollkommen durchsichtig. Der in die obere Oeffnung jeder Glocke eingesetzte Kork war von einigen kleinen Oeffnungen durchbohrt. Die meisten derselben dienten dazu, einen ungehinderten Austausch zwischen dem Sauerstoff der Luft und den Hefezellen zu ermöglichen; die mittelste, etwas grössere Oeffnung war dazu bestimmt, je ein Thermometer in die Glocken einzuführen. Vor Beginn des Versuches waren die Thermometer auf die Gleichmässigkeit ihres Ganges genau geprüft. Bei dem fortdauernden Steigen der Temperatur, welches die nothwendige Folge des Brennens der Gasflammen im geschlossenen Raume war, erwies es sich als nicht ganz leicht, eine vollkommene Gleichmässigkeit der Temperatur in der hellen und der dunklen Glocke zu erhalten. Wo bei einer derselben sich ein geringer Ueberschuss herausstellte, genügte eine sehr geringes Entfernen von dem sich durch die Nähe der Flammen schwach erwärmenden parallelwandigen Wassergefässe, um die Gleichmässigkeit baldigst wiederherzustellen. Länger andauernde Differenzen betrug fast immer nur 0,1° C.

Nach Abschluss des Versuches wurden die während des Zählens noch stattfindenden Zelltheilungen dadurch eingeschränkt, dass beim ersten und zweiten Versuche die beiden Schalen auf Eis gesetzt wurden, beim dritten und vierten Versuche dagegen ihrem Inhalte einige Tropfen Pikrinsäure hinzugefügt wurden. Da hierdurch die Theilungen aber nur verlangsamt, nicht sistirt wurden, mussten die Zählungen sämmtlich an demselben Tage, wo der Versuch abgeschlossen war, vorgenommen werden und zwar derart, dass immer abwechselnd die Zählung an dem Inhalt der hellbeleuchteten und der verdunkelten Glocke ausgeführt wurde. Um nach beiden Seiten hin möglichste Unparteilichkeit walten zu lassen, wurde bei Versuch 1 und 3 die Zählung mit dem Inhalte der hellbeleuchteten, bei Versuch 2 und 4 mit demjenigen der verdunkelten Glocke begonnen.

1) Die Leuchtkraft der Flammen war in der Entfernung von der hinteren Fläche des parallelwandigen, mit Wasser gefüllten Gefässes, in welcher sich die Versuchsobjecte befanden, gleich derjenigen einer Stearinkerze von 27,5 cm Länge, 2 cm Dicke und 83 $\frac{1}{3}$ g Gewicht bei 8,5 bis 9 cm Entfernung.

Ich lasse nun die Resultate der vier nach dieser ersten Methode ausgeführten Versuche folgen:

Versuch 1.

Beginn am 11. Januar 1884, 1 U. Nachm.

Beobachtete Temperaturen¹⁾: 1 U. 15 M. Nachm. H. 17°,8, D. 18°,0; 1 U. 35 M. H. 17°,9, D. 18°,0; 2 U. 35 M. H. 18°,0, D. 18°,2; 3 U. 20 M. H. 18°,3, D. 18°,4; 5 U. 30 M. H. 19°,1, D. 19°,2; am 12. Januar, 8 U. 45 M. Vorm. H. 20°,8, D. 20°,9.

Schluss des Versuches am 12. Januar, 10 U. Vorm.

Resultate:

| Vor Beginn des Versuchs | Nach Abschluss des Versuchs | |
|-------------------------|-----------------------------|---------------|
| | Helle Glocke | Dunkle Glocke |
| 115 | 142 | 195 |
| 102 | 146 | 161 |
| 83 | 142 | 151 |
| 51 | 201 | 167 |
| 57 | 126 | 162 |
| 70 | 232 | 86 |
| 27 | 279 | 225 |
| 94 | 223 | 224 |
| 85 | 174 | 254 |
| 68 | | |
| 752 | 1665 | 1625 |

Mittel: 75,2
Mittel: 185
Mittel: 180,55

Es hatte sich demnach in 21 Stunden jede Hefezelle unter Einfluss des Gaslichtes im Mittel auf 2,46, in der Dunkelheit im Mittel auf 2,40 Zellen vermehrt.

Versuch 2.

Beginn am 15. Januar, 1 U. 15 M. Nachm.

Beobachtete Temperaturen: 1 U. 20 M. Nachm. H. 17°,4, D. 17°,4; 2 U. 30 M. H. 17°,9, D. 17°,8; 5 U. 20 M. H. 19°, D. 18°,8; 5 U. 45 M. H. 19°,5, D. 19°,5; 6 U. 50 M. H. 19°,85, D. 19°,85; am 16. Jan., 8 U. 40 M. Vorm. H. 21°,75, D. 21°,75; 10 U. H. 21°,9, D. 21°,9.

Schluss des Versuches am 16. Jan., 10 U. 10 M. Vorm.

1) H. bedeutet hier und im Folgenden: Helle Glocke, D.: Dunkle Glocke. Die Zahlen beziehen sich auf Grade Celsius.

Resultate:

| Vor Beginn des Versuchs | Nach Abschluss des Versuchs | |
|-------------------------------|-----------------------------|---------------|
| | Helle Glocke | Dunkle Glocke |
| 41 | 109 | 205 |
| 51 | 339 | 155 |
| 32 | 131 | 259 |
| 50 | 212 | 195 |
| 43 | 248 | 313 |
| 49 | 292 | 364 |
| 33 | 193 | 229 |
| 51 | 343 | 298 |
| 57 | 206 | 197 |
| 45 | | |
| <hr/> 452 | <hr/> 2073 | <hr/> 2215 |

Mittel: 45,2 Mittel: 230,33 Mittel: 246,11

Es hatte sich demnach in 20 Stunden 55 Min. jede Hefezelle unter Einfluss des Gaslichtes im Mittel auf 5,10, in der Dunkelheit im Mittel auf 5,44 Zellen vermehrt.

Versuch 3.

Beginn am 22. Januar, 12 U. 30 M. Nachm.

Beobachtete Temperaturen: 12 U. 30 M. H. 16°,6, D. 16°,6; 1 U. 10 M. H. 17°,3, D. 17°,3; 2 U. 23 M. H. 17°,9, D. 17°,8; 3 U. 20 M. H. 18°,3, D. 18°,4; 4 U. 15 M. H. 18°,7, D. 18°,7; 5 U. 50 M. H. 19°,2, D. 19°,2; am 23. Januar, 8 U. 45 M. Vorm. H. 21°,4, D. 21°,45; 10 U. H. 21°,7, D. 21°,7.

Schluss des Versuchs am 23. Januar, 10 U. Vorm.

Resultate:

| Vor Beginn des Versuchs | Nach Abschluss des Versuchs | |
|-------------------------------|-----------------------------|---------------|
| | Helle Glocke | Dunkle Glocke |
| 33 | 49 | 68 |
| 30 | 79 | 121 |
| 10 | 123 | 126 |
| 15 | 97 | 32 |
| 13 | 85 | 37 |
| 2 | 81 | 75 |
| 29 | 73 | 43 |
| 11 | 76 | 54 |
| 15 | 142 | 103 |
| 21 | 69 | 70 |
| 15 | 54 | 28 |
| 33 | 72 | 74 |
| <hr/> 227 | <hr/> 33 | <hr/> 106 |
| | 62 | 127 |
| | <hr/> 1095 | <hr/> 1064 |

Mittel: 18,91 Mittel: 78,21 Mittel: 76

Es hatte sich demnach in 21 Stunden 30 Min. jede Hefezelle unter Einfluss des Gaslichtes im Mittel auf 4,14, in der Dunkelheit im Mittel auf 4,02 Zellen vermehrt.

Versuch 4.

Beginn am 12. Februar, 3 U. 20 M. Nachm.

Beobachtete Temperaturen: 3 U. 30 Min. H. 18°,4, D. 18°,4;
 4 U. 10 M. H. 18°,8, D. 18°,85. 4 U. 40 M. H. 19°,2, D. 19°,2;
 5 U. 25 M. H. 19°,4, D. 19°,5; 6 U. 10 M. H. 19°,9, D. 19°,9;
 6 U. 30 M. H. 20°,0, D. 20°,0; 7 U. 10 M. H. 20°,3, D. 20°,3;
 am 13. Februar, 9 U. 3 M. Vorm H. 22°,0, D. 22°,1; 10 U. 8 M.
 H. 22°,3, D. 22°,2.

Schluss des Versuchs am 13. Februar, 10 U. 10 M. Vorm.

Resultate:

| Vor Beginn des Versuchs | Nach Abschluss des Versuchs | |
|-------------------------------|-----------------------------|---------------|
| | Helle Glocke | Dunkle Glocke |
| 44 | 180 | 197 |
| 23 | 152 | 188 |
| 33 | 133 | 121 |
| 38 | 197 | 368 |
| 20 | 208 | 279 |
| 23 | 197 | 187 |
| 34 | 227 | 168 |
| 32 | 201 | 255 |
| 19 | 225 | 296 |
| 25 | 179 | 296 |
| 291 | 1899 | 2355 |

Es hatte sich demnach in 18 Stunden 50 Min. jede Hefezelle unter Einfluss des Gaslichtes im Mittel auf 6,53, in der Dunkelheit im Mittel auf 8,09 Zellen vermehrt.

Da es, wie oben hervorgehoben wurde, selbst bei raschtester Manipulation nicht möglich ist, den Tropfen Nährlösung derart in der Kammer auszubreiten, dass die Hefe ganz gleichmässig in demselben vertheilt ist, und die Summen der aufeinanderfolgenden Zählungen deshalb, wie wir bei den einzelnen Versuchen sahen, sehr an Gleichmässigkeit zu wünschen übrig lassen, war der Wunsch naheliegend, die auf dem oben beschriebenen Wege gewonnenen Resultate durch eine Methode zu controliren, welche von der einzelnen Hefezelle auszugehen gestattet.

Um vollständig isolirte Zellen zu gewinnen, wurde ein geringes Quantum frischer Presshefe in destillirtem Wasser vertheilt und mit demselben wiederholt stark geschüttelt. Obschon die meisten Zellen

sich hierdurch von einander getrennt hatten, haftete doch eine Anzahl von ihnen immer noch in grösseren oder kleineren Gruppen aneinander. Um diese zu entfernen, wurde die aufgeschlemmte Hefe in ein langes Glasrohr gebracht, welches nach unten durch einen kurzen Gummischlauch mit Quetschhahn abgeschlossen war. Wurde nach etwa $\frac{1}{2}$ stündigem, ruhigen Stehen ein wenig Flüssigkeit abgezogen, so enthielt dieselbe, neben isolirten Zellen, besonders auch zahlreiche Gruppen, welche wegen ihres im Verhältniss zur Masse geringeren Gesamtaufanges rasch zu Boden gesunken waren. Wiederholt man dieses Abziehen mit dem Quetschhahn mehrmals hintereinander mit derselben Flüssigkeit, nachdem dieselbe jedesmal vor dem Stehen von Neuem durcheinandergeschüttelt war, und lässt das letzte Mal ein grösseres Quantum hefehaltiger Flüssigkeit mittels des Quetschhahnes ab, so enthält die nun folgende, am besten in einem Uhrglase zu sammelnde Flüssigkeit, wie man sich mit Hilfe des Microscopes überzeugen kann, jetzt nur noch isolirte Hefezellen.

Um diese und die aus ihnen erwachsenden Sprosscolonieen in der Nährlösung¹⁾ fixiren zu können, wurde letztere mit soviel Gelatine versetzt, als zum Erstarren bei gewöhnlicher Zimmertemperatur nothwendig war. Jedesmal, nachdem ein Tropfen noch flüssiger gelatinirter Nährlösung auf den Objectträger gebracht war, wurde rasch mittels eines ganz sauberen, zu feiner, abgerundeter Spitze ausgezogenen Glasstäbchens ein kleines Tröpfchen des durch Aufrühren mit Hefezellen beladenen destillirten Wassers in denselben eingebracht. Durch rasches Hin- und Herfahren des Glasstäbchens in zwei aufeinander senkrechten Richtungen wurde nun der Tropfen gelatinirter Nährlösung zu rechteckiger Form ausgebreitet und die isolirten Hefezellen möglichst gleichmässig in ihm vertheilt. Demnächst wurde jedes so behandelte Präparat in genau horizontaler Stellung in einen dunstgesättigten Raum gebracht, bis das Erstarren der Nährlösung eingetreten war.

War auf diese Weise die gewünschte Anzahl von Objectträgern (bei unserem Versuche waren es im Maximum je 12) hergerichtet, so wurden dieselben nach vollständigem Erstarren der Gelatine in verticaler Stellung mit dem einen Ende derart in zwei mit feuchtem Sande gefüllte flache Schalen gesteckt, dass die Nährtropfen sämmtlich nach derselben Seite gewendet waren. Die eine Schale mit 6 Präparaten wurde nun unter die dunkle, die andere unter die helle Glocke gebracht, wobei die Präparate mit ihrer Oberseite der Lichtquelle zugekehrt waren. Die weitere Anordnung der Versuche unterscheidet sich von der der früher beschriebenen nur dadurch, dass die Oeffnungen der Korke, durch welche die Thermometer in die Glocke eingeführt waren,

1) Auch zu diesen Versuchen diente die auf S. 133 in ihrer Zusammensetzung beschriebene Nährlösung.

diessmal sorgfältig verschmiert wurden, und dass der Innenraum der Glocken unten durch Wasser abgesperrt wurde, weil die Gelatine-Präparate sonst binnen Kurzem eingetrocknet sein würden.

Hatte der Versuch die gewünschte Zeit angedauert, so zog ich, um die Zählung der aus den einzelnen Zellen hervorgegangenen Sprosscolonieen zu erleichtern, mittels eines spitzen Pinsels parallele Linien mit chinesischer Tusche in die frische Gelatine, bezeichnete die Präparate so genau, dass jeder spätere Irrthum ausgeschlossen war, und liess sie unter Glasglocken eintrocknen. Die Vermehrung der Zellen wurde hierdurch vollkommen sistirt, und die Zählung konnte beliebig mehrere Tage oder selbst Wochen hinausgeschoben werden. Unmittelbar, bevor dieselbe an einem Präparate vorgenommen werden sollte, wurde dasselbe mit einem Gemenge von $\frac{2}{3}$ Glycerin und $\frac{1}{3}$ Wasser in dünner Schicht überdeckt. Nachdem die Gelatine hierdurch aufgeweicht war, traten die Grenzen und Umrisse der Zellen innerhalb der Colonieen fast noch schärfer als in den frischen Gelatine-Präparaten hervor. Ein neues Eintrocknen der Präparate konnte nun nicht stattfinden, und ebenso unterblieb das bei Beobachtung frischer Gelatine-Präparate so lästige Beschlagen der unteren Linse des Objectives mit Wasser.

Obschon, wie sich aus den Mittelwerthen der Zählungen ergab und wie diess ja a priori als selbstverständlich gelten muss, das Eintrocknen der Gelatine den Fortgang der Zelltheilungen unterbricht, habe ich doch um jeden möglichen Einwurf ungleichartiger Behandlung der beleuchteten und verdunkelten Präparate abzuschneiden, immer je zwei solcher Präparate unmittelbar nacheinander der Zählung unterworfen und zwar so, dass ich abwechselnd mit einem beleuchteten und mit einem verdunkelten Präparate begann.

Mit Rücksicht auf die bei Ausführung der Versuche zu beachtende Vorsichtsmassregeln scheint es mir noch besonders bemerkenswerth, dass man für möglichst gleiche Dicke der Gelatinetropfen in den Präparaten Sorge tragen muss, weil bei erheblichen Verschiedenheiten in dieser Beziehung empfindliche Ungleichheiten im Luftzutritt zu den sich entwickelnden Colonieen die nothwendige Folge sind. Selbst bei grösster Sorgfalt kann freilich die erreichbare Gleichmässigkeit immer nur eine annähernde sein, und man findet deshalb, dass beim Eintrocknen nicht alle Präparate genau gleichen Schritt halten. Meines Erachtens ist diess der Hauptgrund, wesshalb die Mittelwerthe der Zellenzahl in den verschiedenen Präparaten desselben Versuches nicht noch genauer übereinstimmen, als es in Wirklichkeit der Fall ist.

Beim Ausführen der Zählung selbst ist es, auch wenn die mit Tusche in die Gelatine gezogenen Linien einander ziemlich nahe liegen, unvermeidlich, dass eine oder die andere Sprosscolonie übergangen wird. Es ist diess ohne jede Bedeutung für das Endresultat, wenn nur der

Zählende sich zur unverbrüchlichen Regel macht, nicht parteiisch zu verfahren und absichtlich eine oder die andere Gruppe zu übergehen. Ich selbst habe Letzteres nur in einigen wenigen Fällen gethan, wo die Zellenzahl einer Colonie das sonst im Präparat vorkommende Maximum erheblich überschritt, also die Gruppe aller Wahrscheinlichkeit nicht aus einer, sondern aus zwei oder mehr nebeneinander gerathenen Hefezellen hervorgegangen war. Doch wardiess bei einem Versuche so überaus selten der Fall, und es vertheilten sich solche Vorkommnisse so gleichmässig auf die Präparate beider Glocken, dass sie eben so gut hätten mitgezählt werden können, ohne das Resultat zu ändern.

Die in den folgenden 4 Tabellen zusammengestellten Zahlen sind meist das Mittel aus mehr als 100 einzelnen Zählungen. Nur da, wo in einem Präparate die ausgesäeten Hefezellen in geringerer Zahl vorhanden waren, musste der Mittelwerth aus weniger Zählungen gewonnen werden.

Versuch 5.

Beginn am 15. Februar, 3 U. 30 M. Nachm. Unter jeder Glocke befanden sich 3 Präparate.

Beobachtete Temperaturen: 3 U. 30 M. H. 21°,5, D. 21°,5; 4 U. 15 M. H. 21°,5, D. 21°,5; 5 U. 8 M. H. 21°,6, D. 21°,7; 6 U. 8 M. H. 21°,75, D. 21°,8; 7 U. 10 M. H. 21°,8, D. 21°,8; am 16. Februar, 8 U. 10 M. Vorm. H. 21°,1, D. 21°,0.

Schluss des Versuchs am 16. Februar, 8 U. 15 M. Vorm.

Reihenfolge der Zählungen, welche an sämtlichen Präparaten am 16. Februar zwischen 10 U. 30 M. Vorm. und 3 U. Nachm. vorgenommen wurden:

1) H. I. 2) D. I. 3) D. II. 4) H. II. 5) H. III. 6) D. III.

Resultate:

| Helle Glocke | | | Dunkle Glocke | | |
|--------------|---------------------------|-------|---------------|---------------------------|-------|
| I. | (Mittel aus 30 Zählungen) | 18,07 | I. | (Mittel aus 12 Zählungen) | 17,17 |
| II. | (" " 21 ") | 17,57 | II. | (" " 24 ") | 15,46 |
| III. | (" " 13 ") | 16,31 | III. | (" " 6 ") | 20 |
| | | 51,95 | | | 52,63 |
| | Mittel: | 17,32 | | Mittel: | 17,54 |

d. h. in der Zeit von 16 Stunden und 45 Min. waren unter der hellbeleuchteten Glocke aus einer Zelle im Mittel 17,32, unter der dunklen Glocke aus einer Zelle 17,54 Zellen hervorgegangen.

Versuch 6.

Beginn am 19. Februar, 2 U. 55 M. Nachm. Unter jeder Glocke befanden sich je 3 Präparate, von denen später nur je zwei der Zählungen unterworfen wurden.

Beobachtete Temperaturen: 3 U. 15 M. Nachm. H. 16°,35, D. 16°,4; 4 U. H. 16°,8, D. 16°,9; 4 U. 30 M. H. 17°,15, D. 17°,2; 5 U. 10 M. H. 17°,5, D. 17°,5; 8 U. 20 M. H. 18°,80, D. 18°,85; am 20. Febr., 8 U. 25 M. Vorm. H. 20°,2, D. 20°,4; 9 U. 15 M. H. 20°,4, D. 20°,5; 10 U. H. 20°,7, D. 20°,65.

Schluss des Versuchs am 20. Februar, 10 U. Vorm.

Reihenfolge der Zählungen, welche sämtlich am 20. Februar zwischen 11 U. Vorm. und 3 U. Nachm. vorgenommen wurden:

- 1) D. I. 2) H. I. 3) H. II. 4) D. II.

Resultate:

| Helle Glocke | | Dunkle Glocke | |
|--------------|------------------------------|---------------|---------------------------------|
| I. | (Mittel aus 50 Zählungen) 16 | I. | (Mittel aus 78 Zählungen) 13,99 |
| II. | (" " 36 ") 17,11 | II | (" " 45 ") 15,96 |
| | 33,11 | | 29,95 |
| | Mittel: 16,56. | | Mittel: 14,98 |

d. h. in der Zeit von 19 Stunden und 5 Min. waren unter der hellbeleuchteten Glocke aus einer Zelle im Mittel 16,56, unter der dunklen Glocke aus einer Zelle 14,98 Zellen hervorgegangen.

Versuch 7.

Beginn am 22. Februar, 2 U. 40 Min. Nachm. Unter jeder Glocke befanden sich 6 Präparate.

Beobachtete Temperaturen: 2 U. 55 M. H. 19°,3, D. 19°,2; 3 U. 5 M. H. 19°,5, D. 19°,5; 7 U. H. 20°,9, D. 20°,8; 7 U. 35 M. H. 21°,0, D. 21°,0; 8 U. 5 M. H. 21°,1, D. 21°,1; 8 U. 53 M. H. 21°,3, D. 21°,35; 9 U. 25 M. H. 20°,4, D. 20°,4; am 23. Febr., 8 U. 15 M. Vorm. H. 22°,1, D. 22°,2.

Schluss des Versuchs am 23. Febr., 8 U. 15 M. Vorm.

Reihenfolge der Zählungen: am 23. Februar. 1) H. I. 2) D. I.; am 25. Februar. 3) D. II. 4) H. II.; am 27. Februar. 5) H. III. 6) D. III.; am 1. März. 7) D. IV. 8) H. IV.; am 3. März. 9) H. V. 10) D. V.; am 13. März. 11) D. VI. 12) H. VI.

Resultate:

| Helle Glocke | | | Dunkle Glocke | | |
|--------------|----------------------------|--------|---------------|----------------------------|--------|
| I. | (Mittel aus 154 Zählungen) | 17,03 | I. | (Mittel aus 182 Zählungen) | 17,17 |
| II. | (" " 133 ") | 18,20 | II. | (" " 129 ") | 16,93 |
| III. | (" " 151 ") | 19,87 | III. | (" " 128 ") | 18,76 |
| IV. | (" " 126 ") | 17,90 | IV. | (" " 126 ") | 18,22 |
| V. | (" " 151 ") | 19,26 | V. | (" " 150 ") | 18,75 |
| VI. | (" " 163 ") | 17,15 | VI. | (" " 158 ") | 17,66 |
| | | 109,41 | | | 107,49 |
| | Mittel: | 18,24 | | Mittel: | 17,92 |

d. h. in der Zeit von 17 Stunden und 35 Min. waren unter der hellbeleuchteten Glocke aus einer Zelle im Mittel 18,24, unter der dunklen Glocke aus einer Zelle 17,92 Zellen hervorgegangen.

Versuch 8.

Beginn am 4. März, 3 U. 35 M. Nachm. Unter jeder Glocke befanden sich 6 Präparate.

Beobachtete Temperaturen: 3 U. 55 M. H. 16°,9, D. 16°,9; 4 U. 20 M. H. 16°,95, D. 17°,0; 4 U. 30 M. H. 16°,98, D. 17°,04; 5 U. 30 M. H. 17°,3, D. 17°,35; 6 U. 35 M. H. 17°,6, D. 17°,6; 8 U. 40 M. H. 18°,0, D. 18°,0; 9 U. 20 M. H. 18°,1, D. 18°,1; am 5. März, 8 U. 30 M. Vorm. H. 18°,3, D. 18°,3.

Schluss des Versuchs am 5. März, 8 U. 30 M. Vorm.

Reihenfolge der Zählungen: am 5. März. 1) D. I. 2) H. I.; am 7. März. 3) H. II. 4) D. II.; am 8. März. 5) D. III. 6) H. III.; am 10. März. 7) H. IV. 8) D. IV.; am 11. März. 9) D. V. 10) H. V.; am 12. März. 11) H. VI. 12) D. VI.

Resultate:

| Helle Glocke | | | Dunkle Glocke | | |
|--------------|----------------------------|-------|---------------|----------------------------|-------|
| I. | (Mittel aus 157 Zählungen) | 6,78 | I. | (Mittel aus 274 Zählungen) | 6,95 |
| II. | (" " 167 ") | 7,05 | II. | (" " 36 ") | 6,89 |
| III. | (" " 140 ") | 8,74 | III. | (" " 147 ") | 7,63 |
| IV. | (" " 154 ") | 6,72 | IV. | (" " 214 ") | 5,91 |
| V. | (" " 124 ") | 6,43 | V. | (" " 160 ") | 6,17 |
| VI. | (" " 172 ") | 6,23 | VI. | (" " 78 ") | 6,53 |
| | | 41,95 | | | 40,08 |
| | Mittel: | 6,99 | | Mittel: | 6,68 |

d. h. in der Zeit von 16 Stunden und 55 Min. waren unter der hellbeleuchteten Glocke aus einer Zelle in Mittel 6,99, unter der dunklen Glocke im Mittel 6,68 Zellen hervorgegangen.

Obschon die Resultate der 8 vorstehend mitgetheilten Versuche nicht so unmittelbar mit einander vergleichbar sind, dass sich ein Mittel aus ihnen gewinnen liesse, da die Dauer des Versuches und der Gang der Temperaturen nicht dieselben waren, so geben wir dennoch, der leichteren Uebersicht halber, in der folgenden Tabelle eine Zusammenstellung der Zahlen, welche die mittlere Vermehrung der einzelnen Zellen am Schlusse jedes Versuches bezeichnen:

| Nummer des Versuchs | Helle Glocke | Dunkle Glocke |
|------------------------|-----------------|------------------|
| 1 | 2,46 | 2,40 |
| 2 | 5,10 | 5,44 |
| 3 | 4,14 | 4,02 |
| 4 | 6,53 | 8,09 |
| 5 | 17,32 | 17,54 |
| 6 | 16,56 | 14,98 |
| 7 | 18,24 | 17,92 |
| 8 | 6,99 | 6,68 |
| Summa: | 77,34 | 77,07 |

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich, dass in 3 von den 8 Versuchen die Vermehrung der Zellen unter der dunklen Glocke, in 5 Versuchen dagegen unter der hellen Glocke eine etwas stärkere war, und dass die Verschiedenheiten nach beiden Richtungen sich in den Summen ziemlich genau compensiren.

Ich glaube demgemäss zu den Ausspruch berechtigt zu sein, dass die Zelltheilungen von *Saccharomyces cerevisiae* bei mässigem Lichte mit gleicher Lebhaftigkeit stattfinden, wie im Dunkeln.

Eine Uebertragung dieses Resultates auf andere Fälle von Zelltheilung ist desshalb unthunlich, weil, wie Sachs¹⁾ schon hervorgehoben hat, die Beleuchtungsverhältnisse, unter denen die Zelltheilungen in freier Natur sich vollziehen, im Einzelnen so sehr verschiedene sind. Es ist desshalb von vornherein wahrscheinlich, dass sich mit Rücksicht auf die Beziehungen des Lichtes zur Zelltheilung ganz ebensolche Anpassungserscheinungen herausgebildet haben, wie solche für das Zellwachsthum in geringer Zahl bekannt sind.

1) Siehe oben, p. 130.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1884

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Kny Leopold

Artikel/Article: [Die Beziehungen des Lichtes zur Zelltheilung bei Saccharomyces cerevisiae 129-144](#)